

Динаміка рівня NO-синтази у хворих на акантолітичну пухирчатку в процесі терапії глюкокортикостероїдами

Літвінов В. А., Федотов В. П.

Запорізький державний медичний університет

Мета роботи. Підвищення ефективності лікування хворих на акантолітичну (вulгарну) пухирчатку глюкокортикостероїдами за даними вивчення рівня NO-синтази на різних етапах терапії. **Матеріали та методи.** Під нашим спостереженням перебувало 15 хворих на акантолітичну пухирчатку (АП) у віці 58-74 роки (чоловіків – 10, жінок – 5). Матеріал (кров) вивчали тричі: до і після терапії, у період амбулаторного лікування підтримуючими дозами гормонів. У 9 з 15 хворих до початку терапії встановлено артеріальну гіпертензію, а 8 хворих до вступу до стаціонару амбулаторно самостійно приймали глюкокортикостероїди. Рівень NO-синтази визначали за методом Гріса. Концентрацію NO розраховували за калібровочною кривою з перерахунком на загальний білок і представляли у мкмоль/г білка/хв. **Результати та їх обговорення.** У всіх досліджених хворих, на відміну від здорових осіб, до початку терапії був статистично високий ($p < 0,05$) рівень NO-синтази. Більш високий рівень NO-синтази до лікування виявлено у хворих на АП, які попередньо не отримували глюкокортикостероїдів, а також при супутній артеріальній гіпертензії. Після закінчення стаціонарної терапії рівень NO-синтази знижався майже у 2 рази ($p < 0,05$), а в період амбулаторного лікування підтримуючими дозами глюкокортикостероїдів продовжувався знижуватись ($p < 0,05$). **Висновки.** У хворих на АП виявлені суттєві зрушення рівня NO-синтази як у бік підвищення, так і зниження, що потребує терапевтичної корекції. Тому ми рекомендуємо вивчення рівня NO-синтази у хворих на АП на різних етапах лікування глюкокортикостероїдами як прогностичний фактор для вибору адекватних доз глюкокортикостероїдів (для зниження рівня NO-синтази), а також статинів (для зростання рівня оксиду азоту).

Ключові слова. гіпертонічна хвороба, глюкокортикостероїд, діабет, оксид азоту, пухирчатка, статин, терапія, шкіра, NO-синтаза.

Досить складною проблемою для клініцистів є лікування хворих на розповсюджені, часто рецидивуючі, а також системні дерматози; це пов'язано з тим, що, призначаючи комплексну терапію, вони повинні враховувати патогенез і клініку захворювання, а також можливість побічних ефектів і ускладнень у процесі цього лікування [1], [3].

Особливу групу пацієнтів складають хворі на акантолітичну пухирчатку, оскільки у терапії цих пацієнтів використовуються значні дози кортикостероїдів, а підтримуюча терапія глюкокортикостероїдними гормонами проводиться досить тривалий період (навіть довічно), тому що відсутня альтернатива цим препаратам [14], [17].

Захворюваність на пухирчатку становить у цілому 0,5-3,2 випадку на 100 тис. населення. Питома вага цього дерматозу становить від 0,7 % до 1,0 % у структурі шкірних хвороб і не більше 1,5 % дерматозів, за даними інших авторів [15], [18], [20]. У Запорізькій обл. у 2016 р. зареєстровано 62 хворих на акантолітичну пухирчатку.

Найбільш раннім виявом ускладнень є синдром Іщенко–Кушинга; потім приєднуються гнійні, грибні і вірусні інфекції, загострюється туберкульоз. У цих хворих розвивається гіпокаліємія, гіпокальціємія, що проявляється:

- парестезіями;
- судомами попереочно-сугастих м'язів;
- остеопорозом;
- остеомаліцією;
- патологічними переломами.

У цих хворих затримуються солі натрію, що сприяє розвитку стероїдної гіпертонії та набряків. Досить часто розвивається ендогенна інтоксикація, гіпопротеїнемія, формується гастрит, езофагіт, виразка шлунка і дванадцятипалої кишки. Гіперглікемія розвивається внаслідок стимуляції глюконеогенезу та периферичної антиінсулінової дії глюкокортикостероїдів; у хворих розвивається тромбоемболія легеневої артерії, безсоння, ейфорія, збудження, психоз.

У цих хворих нерідко діагностується:

- катаракта;
- асептичний некроз кістки;
- атрофія м'язів;
- ламкість судин;
- стероїдні акне;
- затримка росту;
- гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова недостатність;
- інфекційно-запальні явища;
- тромбози та ін. [2], [10], [16].

Нашу увагу привернув оксид азоту (*NO*), оскільки біосинтез і метаболізм його в організмі є актуальною проблемою теоретичної і практичної медицини [8], [13]. На сьогоднішній день оксид азоту визнаний найважливішим медіатором, що опосередковує широкий діапазон різноманітних фізіологічних і патофізіологічних процесів, а саме [6], [19]:

- регулює тонус дрібних і середніх кровоносних судин, сприяючи розслабленню гладкої мускулатури;
- має антикоагуляційні властивості, пригнічуючи активацію тромбоцитів;
- опосередковує імунну відповідь і нейротрансмісію.

Продукцію оксиду азоту в організмі каталізують три ізоформи ферменту *NOS*, дві з яких – постійно функціонуючі ферменти:

- нейрональна *NO*-синтаза;
- ендотеліальна *NO*-синтаза.

Зниження рівня *NO* вважають однією з причин дисфункції ендотелію при:

- дисліпідемії;
- гіперхолестеринемії;
- цукровому діабеті 2 типу;
- артеріальній гіпертонії;
- серцевій недостатності та ін.

NO, що продукується в макрофагах, обумовлює цитотоксичну та цитостатичну дію на пухлинні і бактеріальні клітини. Індукція цього ферменту і відповідно – продукція оксиду азоту підвищується при серцевій недостатності, кардіоміопатії, міокардиті та ін. Концентрація *NO* є головним чинником, що обумовлює його біологічний ефект [4], [9]. У високій концентрації даний метаболіт:

- бере участь у протипухлинному, антимікробному захисту;
- впливає на еозинофільне запалення та утворення вільних радикалів;
- індукує перекисне окислення ліпідів, пошкоджується ланцюг ДНК.

Підвищення експресії *iNOS* відзначається у різних клітинах шкіри під впливом фактора некрозу пухлини, інтерферону γ , ліпополісахариду, *IL8* та *IL1\beta* при:

- різних патологічних процесах шкіри (псоріаз, atopічний дерматит, контактний дерматит та ін.);
 - пухлинному процесі;
 - загоєнні ран.
- Інгібіторами транскрипції *iNOS* є [5], [21]:
- циклоспорини;
 - такролімус;
 - пімекролімус;
 - глюкокортикоїди;
 - циклофіліни;

- кретиноїди;
- простагландини;
- *IL4*;
- *IL10*.

Таким чином, біологічні ефекти оксиду азоту в значній мірі визначаються [11], [22]:

- його біодоступністю, тобто тонкою рівновагою між його продукцією під дією *NO*-синтази, з одного боку;

- його утилізацією в тканинах або інактивацією за участю супероксидрадикалів, окислених ЛНП і подібних з'єднань, з іншого боку.

Недостатня продукція оксиду азоту пов'язана з розвитком порушень у серцево-судинній та інших системах організму. Разом з тим, його надлишкова продукція, за рахунок якої забезпечується антимікробний ефект при запаленні, може перетворитися з ланки адаптації у ланку патогенезу і стати не менш небезпечним фактором, що уражує організм не гірше, ніж дефіцит *NO* [7], [12].

Тому, на наш погляд, становить певний інтерес вивчення рівня *NO* у хворих на акантолітичну пухирчатку і його ролі у патогенезі, а також зміни рівня оксиду азоту в процесі терапії глюкокортикостероїдами. Це дозволить розробити методи раціональної коригуючої терапії як до, так і у процесі і після закінчення лікування, особливо при проведенні підтримуючої терапії гормональними препаратами.

Мета роботи – підвищити ефективності лікування хворих на акантолітичну пухирчатку глюкокортикостероїдами за даними вивчення *NO*-синтази на різних етапах терапії.

Матеріал. Нами досліджено 15 хворих на акантолітичну (вульгарну) пухирчатку у віці 58-74 роки, чоловіків – 10, жінок – 5. Матеріал (кров) вивчали тричі:

- до початку лікування;
- у процесі лікування;
- у період, коли хворий отримував підтримуючу терапію глюкокортикостероїдами.

Серед обстежених хворих:

- 8 хворих до вступу на стаціонарне лікування самостійно приймали *per os* глюкокортикостероїди;
- 7 хворих попередньо не лікувались гормональними препаратами.

Із супутніх захворювань встановлено:

- гіпертонічну хворобу – у 9 хворих;
- цукровий діабет – у трьох хворих.

Методи дослідження – клінічні, біохімічні: визначали метаболіти оксиду азоту за Грісом у біологічному матеріалі [6]. До 0,2 мг сироватки крові додавали 2,0 г депротеїнізатору (750 мл

$ZnSO_4$ + 100 мл $NaOH$ до 100 мл H_2O) та інкубували 15 хв. при $t = 27-30^\circ C$. Потім проби центрифугували при 1500 об./хв. протягом 20 хв. Надосадек кількісно переносили до чистої пробірки і додавали 1 мл реактиву Гріса (10 г у 90 мл 12,5-відсоткової оцтової кислоти). Проби залишали на 15 хв. при кімнатній температурі, після чого спектрофотометрували при довжині хвилі 540 нм. Контролем слугували 2 мл дистильованої води і 1 мл реактиву Гріса. Концентрацію NO розраховували за калібровочною кривою з перерахунком на загальний білок і виражали у кмоль/г білка/хв.

Результати та їх обговорення. Результати аналізу рівня NO-синтази у різні періоди лікування хворих на акантолітичну пухирчатку показані у Табл. 1. **Посилення процесів метаболізму NO**, як видно з таблиці, проявлялось у вигляді статистично значного підвищення ($p < 0,05$) рівня NO-синтази у хворих на акантолітичну пухирчатку до початку лікування. Після закінчення стаціонарного лікування на протязі 25-36 діб за допомогою високих дозировок глюкокортикостероїдів рівень NO-синтази різко знижався майже у 2 рази, але він був достатньо високим у порівнянні зі здоровими особами.

Таблиця 1 - Виразність процесів метаболізму NO у обстежених хворих на акантолітичну пухирчатку на різних етапах лікування

| Показник в нмоль/г білка/хв. | Здорові особи ($n = 34$) | Хворі на пухирчатку ($n = 15$) | | |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------------|--|-------------------------------|
| | | До лікування | Після закінчення стаціонарного лікування | У період підтримуючої терапії |
| NO-синтаза | $0,41 \pm 0,08$ | $12,6 \pm 0,68^*$ | $5,92 \pm 0,3^{* \#}$ | $2,04 \pm 0,32^{* \# \star}$ |

ПРИМІТКА: * – $p < 0,05$ при порівнянні зі здоровими особами;

– $p < 0,05$ при порівнянні до і після лікування;

★ – $p < 0,05$ – порівняння після стаціонарного лікування та амбулаторної підтримуючої терапії глюкокортикостероїдами.

Звертає на себе увагу, що при прийому препаратів глюкокортикостероїдів є підтримуючих дозах в умовах амбулаторії через 2-3 місяці після виписки зі стаціонару рівень NO-синтази значно зменшувався, але був більш високим у порівнянні зі здоровими особами ($p < 0,05$).

Слід відмітити, що рівень NO-синтази у хворих на акантолітичну пухирчатку не залежав від віку та статі пацієнтів.

Встановлено, що більш високі показники NO-синтази зареєстровані у 7 хворих, які не отримували до стаціонарного лікування глюкокортикостероїди ($14,8 \pm 0,9$ нмоль/мг білку/хв.). А у 8 досліджених хворих, які попередньо амбулаторно приймали глюкокортикостероїди, рівень NO-синтази складав $9,6 \pm 0,4$ нмоль/мг білку/хв., що було статистично достовірною ($p < 0,05$) у порівнянні з 7 хворими, які не отримували гормональних препаратів.

Дуже важливо, на наш погляд, що нами встановлено високі показники NO-синтази у 9 хворих на акантолітичну пухирчатку із супутньою артеріальною гіпертензією – до $16,9 \pm 0,8$ нмоль/мг білку/хв., що було статистично значиме ($p < 0,05$); такої залежності не знайдено у трьох хворих з супутнім цукровим діабетом.

Таким чином, оксид азоту є універсальною молекулою, яка бере участь у регуляції численних процесів в шкірі людини. Він стимулює

утворення різних його концентрацій у різних умовах різними типами клітин. Складність механізмів, що реалізують дію NO, полягає у різнонаправлених змінах NO у перебігу акантолітичної пухирчатки. Регулюючим фактором є діяльність NO-синтази, яка знаходиться у складних взаємодіях з різними клітинами і цитокінами. У хворих на акантолітичну пухирчатку ми виявили високий рівень NO-синтази, що викликає патологічну дію NO, а при лікуванні глюкокортикостероїдами її рівень різко знижується, особливо при подальшій терапії підтримуючими дозами глюкокортикостероїдів. Регулюючим фактором є діяльність NO-синтази, що свідчить про те, що при акантолітичній пухирчатці немає однозначного позитивного або негативного впливу оксиду азоту (як підвищення, так і зниження показників) при його відповідній концентрації. Тому абсолютно обґрунтовано для зменшення патологічної дії NO призначення хворим на акантолітичну пухирчатку адекватних доз глюкокортикостероїдів. Однак при подальшій стаціонарно-амбулаторній терапії, яка триває місяцями і навіть роками, при різному зниженні NO, що також справляє негативний вплив на організм, необхідний постійний контроль рівня NO-синтази. Це дозволить при його істотному зниженні рекомендувати коригувальну терапію шляхом призначення статинів, які підвищують його рівень.

Висновки

1. У хворих на акантолітичну пухирчатку, на відміну від здорових осіб, встановлено статистично достовірно високий рівень *NO*-синтази, особливо в осіб із супутньою артеріальною гіпертензією та у тих пацієнтів, які попередньо амбулаторно не приймали всередину глюкокортикоїди.

2. Терапія цих хворих глюкокортикостероїдами сприяла зниженню рівня *NO*-синтази ($p < 0,05$), що позитивно впливало на усунення клінічних проявів пухирчатки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Адашкевич В. П., Козловская В. В. Пузырчатка: эпидемиология, патогенез, клинические проявления, диагностика. Медицинские новости. 2008. № 16. С. 246 – 247.
2. Адашкевич В. Н. Неотложная дерматология. М.: Триадафарм, 2001. 196 с.
3. Берестенко О. В., Скорина В. А., Юнкina И. В., Задорожный В. З. Случай нетипичного клинического течения вульгарной пузырчатки – депрессивный эпизод тяжелой степени без психотических симптомов, суицидальная попутка. Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. 2011. № 1 – 4. С. 246 – 247.
4. Бут Н. А., Супрун Э. В., Громов Л. А., Пиминov А. Ф. Влияние рониолейкина на эффекты системы оксида азота в головном мозге крыс с экспериментальным геморрагическим инсультом. Патология. 2012. Т. 26, № 3. С. 123.
5. Василенко И. В., Павлюченко К. П., Мухина Е. В., Селезнев А. А. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе неоваскулярной глициомы. Патология. 2009. № 2. С. 96 – 98.
6. Виноградов Н. А., Журавлева И. А., Виноградов Н. А., Мелентьев И. А. Метод определения оксида азота в моче. Рос. кард. журн. 2003. № 3. С. 63 – 66.
7. Дубинина Е. Е., Пустыгина А. В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях. Укр. біохім. журн. 2008. Т. 80, № 6. С. 5 – 18.
8. Елкина Н. М., Коцюруба А. В., Сагач В. Ф. и др. Особенности системы синтеза оксида азота и процессов нитрозилирования в эритроцитах при ишемической болезни сердца. Таврический медико-биологический вестник. 2013. Т. 16, № 3. Ч. 3 (63). С. 40 – 43.
9. Коровай С. В. Роль эндотеліальної дисфункції в розвитку передчасних пологів. Патология. 2012. Т. 25, № 2. С. 10 – 13.
10. Литвинов В. А. Акантолитическая пузырчатка: осложнения после проведения терапии глюкокортикостероидами. Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. 2012. № 1 – 4. С. 235 – 237.
11. Макурина Г. И. Патогенетические эффекты плазменных тиолов у больных псориазом на фоне артериальной гипертензии. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2016. Т. 22, № 3. – С. 67 – 74.
12. Меньшиков Е. Б., Зеньков Н. К., Лапкин В. З. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. 284 с.
13. Метельская В. А., Гумакова Н. Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. Лабораторная медицина. 2005. № 7. С. 19 – 24.
14. Охотникова Е. Н., Калюжна Л. Д., Гладуш Ю. И., Иванова Т. П., Ткачева Т. Н., Яковлева Н. Ю., Поночевная Е. В., Грищенко О. Н., Маташ О. А. Тяжелое течение акантолитической пузырчатки в практике врача-педиатра, детского дерматолога, аллерголога, пульмонолога // Клін. імунол. алергол. інфектол. 2010. № 8. С. 50 – 60.
15. Потекаев Н. С., Кочергин Н. Г., Теплюк Н. П. и др. Терапевтическая тактика при стероиднорезистентной вульгарной пузырчатке. Рос. журн. кожн. вен. болезней. 2003. № 2. С. 11 – 15.
16. Про удосконалення дерматовенерологічної допомоги населенню України. Наказ МОЗ України № 286 від 07.06.2004.
17. Рощенюк Л. В., Владика А. С., Міненко С. В., Варжайнова Т. Н., Воронцов В. М. Профілактика ускладнень, зумовлених побічною дією кортикостероїдної терапії у хворих на пухирчатку. Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. 2014. Т. 55, № 4. С. 56 – 61.
18. Рыжко В. П., Владыка А. С., Воронцов В. М. и др. К проблеме инфузионной терапии в дерматовенерологии. Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. 2011. Т. 40, № 1. С. 97 – 100.
19. Сагач В. Ф., Коркач Ю. П., Коцюруба А. В., Присяжна О. Д. Пригнічення оксидативного та нітрозативного стресу як механізм кардіо-і вазопротекторної дії ендистерону за умов експериментального цукрового діабету I типу. Фізіол. журн. 2008. Т. 54, № 5. С. 46 – 54.

20. Суздальцева И. В., Пантелеева Г. А., Копытова Т. В. К вопросу о патогенезе акантолитической пузырчатки. Сучасні проблеми дерматовенерологічної і косметологічної допомоги в умовах реформування охорони здоров'я: Збірн. наук. праць. Вип. в додаток до Вісника ХНУ ім. В. Н. Каразіна. Сер. «Медицина». Харків, 2009. С. 139 – 143.
21. Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И. и др. NO-синтазная активность в головном мозге спонтанно гипертензивированных крыс: модулирующее действие нового препарата «МТ». Патология. 2012. Т. 26, № 3. С. 125.
22. Vizir V.A., Makurina G. I. State of free-radical processes and antioxidant defense of patients with psoriasis and concomitant essential hypertension. Запорожский медицинский журнал. 2016. № 4 (97). С. 21 – 28.

ДИНАМИКА УРОВНЯ NO-СИНТАЗЫ У БОЛЬНЫХ АКАНТОЛИТИЧЕСКОЙ ПУЗЫРЧАТКОЙ В ПРОЦЕССЕ ТЕРАПИИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДАМИ

Литвинов В. А., Федотов В. П.

Запорожский государственный медицинский университет

Цель работы. Повышение эффективности лечения больных акантолитической (вульгарной) пузырчаткой глюкокортикостероидами по данным изучения уровня NO-синтазы на разных этапах терапии. **Материалы и методы.** Под нашим наблюдением находились 15 больных акантолитической пузырчаткой (АП) в возрасте 58-74 года (мужчин – 10, женщин – 5). Материал (кровь) изучали трижды: до и после терапии и в период амбулаторного лечения поддерживающими дозами гормонов. У 9 из 15 больных до начала терапии выявлена артериальная гипертензия, а 8 больных до поступления в стационар амбулаторно самостоятельно принимали глюкокортикостероиды. Уровень NO-синтазы определяли по методу Гриса. Концентрацию NO рассчитывали по калибровочной кривой с перерасчетом на общий белок и выражали в мкмоль/г белка/мин. **Результаты и их обсуждения.** У всех исследованных больных, в отличие от здоровых лиц, до начала терапии установлен статистически высокий ($p < 0,05$) уровень NO-синтазы. Более высокий уровень NO-синтазы до лечения был установлен у больных АП, которые предварительно не получали глюкокортикостероиды, а также при сопутствующей артериальной гипертензии. После окончания стационарной терапии уровень NO-синтазы снижался почти в 2 раза, а в период амбулаторного лечения поддерживающими дозами глюкокортикостероидов продолжал снижаться ($p < 0,05$). **Выводы.** У больных АП выявлены существенные сдвиги уровня NO-синтазы как в сторону повышения, так и снижения, что требует терапевтической коррекции. Поэтому мы рекомендуем изучать уровень NO-синтазы у больных АП на разных этапах лечения их глюкокортикостероидами как прогностический фактор для выбора адекватных доз глюкокортикостероидов (для снижения уровня NO-синтазы), а также статинов (для увеличения уровня NO-синтазы).

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, глюкокортикостероид, диабет, кожа, оксид азота, пузырчатка, статины, терапия, NO-синтаза.

DYNAMICS OF THE NO-SYNTHASE LEVEL IN PATIENTS WITH ACANTHOLYTIC PEMPHIGUS IN THE PROCESS OF THE THERAPY BY CORTICOSTEROIDS

Litvinov V. A., Fedotov V. P.

Zaporizhzhya State Medical University

Objective. Improving the efficiency of treatment of patients with acantholytic (vulgar) pemphigus by the use of corticosteroids according to the data of the NO-synthase level at different stages of the therapy. **Materials and methods.** We examined 15 patients with acantholytic pemphigus aged 58-74 years (10 men and 5 women). The material (blood) was studied three times: before and after the therapy and during the period of outpatient treatment by maintaining doses of hormones. Arterial hypertension was revealed before the therapy in 9 out of 15 patients. 8 patients used corticosteroids by themselves before admission to hospital. The level of NO-synthase was determined by Gris method. The NO concentration was calculated from a calibration curve based on the total protein and expressed in $\mu\text{mol/g}$ of protein/min. **Results and their discussion.** All the patients having been studied, unlike healthy individuals, before the therapy had statistically high ($p < 0.05$) levels of NO-synthase. The higher level of NO-synthase before treatment was established in patients with acantholytic pemphigus, who previously had not received hormones, as well as in ones with concomitant arterial hypertension. After inpatient therapy, the level of NO-synthase decreased almost two times, and during outpatient treatment by maintaining doses of corticosteroids the level continued to decrease ($p < 0.05$). **Conclusions.** Patients with acantholytic pemphigus revealed significant changes in the level of NO-synthase in the direction of increase as well as of decrease, that required therapeutic correction. Therefore, we recommend to study the NO-synthase level in patients with acantholytic pemphigus at different stages of their treatment by corticosteroids as a prognostic factor for the selection of adequate doses of corticosteroids (to reduce the NO-synthase level), and statins (to increase the NO-synthase level).

Keywords: corticosteroid, diabetes, hypertension, nitric oxide, NO-synthase, pemphigus, skin, statin, treatment.

Федотов Валерий Павлович – заведующий кафедрой дерматовенерологии и косметологии с циклом эстетической медицины ФПО ЗГМУ, доктор медицинских наук, профессор.

Литвинов Владимир Анатольевич – аспирант кафедры дерматовенерологии и косметологии с циклом эстетической медицины ФПО ЗГМУ.
vilitvinov2008@gmail.com